



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

## FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC25923  
COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO  
CIRUJANO

AUTORA

Lucero Beatriz Gonzales Deza

ASESORES

Dra. Evelyn del Socorro Goicochea Ríos

Mg. Blgo. Jaime Polo Gamboa

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades infecciosas y transmisibles

Trujillo – Perú

2018

## DEDICATORIA

*A mis padres por su esfuerzo y sacrificio diario, porque gracias a la fe que han depositado en nuestro señor Jesucristo, he sabido seguir adelante y superar los obstáculos de mi vida.*

*A “Feliche”, pilar fundamental para mi formación, de quien aprendí que con voluntad, esfuerzo, perseverancia y humildad puedo lograr lo que me proponga.*

*Gracias a mi madrina Dina por brindarme su apoyo y confianza desde el primer momento. Hoy puedo decirle: ¡Tenías razón, lo logré!*

*A mi hermano Kenyo, quien fue mi compañero de desveladas durante estos años en la universidad.*

*A mí siempre “hermanito” Johan, quien fue, es y será mi motivación para seguir adelante. Por él y para él este logro. Te amo pequeño!*

**Lucero Beatriz Gonzales Deza**

## AGRADECIMIENTO

*A Dios por sobre todas las cosas, porque nunca se apartó de mi lado y me mantuvo firme pese a toda dificultad que se e ha presentado.*

*A mis asesores por la dedicación, paciencia y sobre todo tolerancia que fue indispensable para la elaboración y culminación de mi tesis.*

*A la Universidad Cesar Vallejo por brindarme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.*

*A la persona que me acompañó durante este año de retos, los cuales pude superar gracias a su apoyo incondicional.*

**Lucero Beatriz Gonzales Deza**

## DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

### DECLARACIÓN JURADA

Yo, Lucero Beatriz Gonzales Deza, estudiante de Pregrado de la Escuela Académico Profesional de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo, identificada con DNI 47952150 número de matrícula 7000321535, autora de la tesis titulada:

“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum*  
SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON  
CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO”

Me comprometo someterme a la normativa de mi universidad en caso de identificarse algún tipo de fraude, plagio, autoplagio, piratería o falsificación asumiendo las consecuencias y acciones con las que se me sancionen.

Trujillo, 28 de Noviembre de 2018

Lucero Beatriz Gonzales Deza

DNI 47952150 - N° Matrícula 7000321535

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento del reglamento de grados y títulos de la Universidad César Vallejo presento antes ustedes la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC25923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO, la que someto a vuestra consideración y esperando que cumpla con los criterios de aprobación para obtener el título Profesional De Médico Cirujano.

El autor

## ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES .....	1
PÁGINA DEL JURADO.....	1
DEDICATORIA .....	2
AGRADECIMIENTO .....	3
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD .....	4
PRESENTACIÓN .....	5
RESUMEN .....	7
ABSTRACT.....	8
I. INTRODUCCIÓN .....	9
1.1. Realidad problemática.....	9
1.2. Trabajos previos .....	10
1.3. Teorías relacionadas al tema .....	11
1.4. Formulación al problema.....	14
1.5. Justificación del estudio .....	15
1.6. Hipótesis.....	15
1.7. Objetivos .....	16
1.7.1. Objetivo general .....	16
1.7.2. Objetivos específicos .....	16
II. MÉTODO.....	16
2.2. Variables, operacionalización .....	17
2.3. Población y muestra .....	18
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	18
2.4.1. La técnica para la investigación aplicada en el estudio es: .....	18
2.4.2. Procedimiento .....	19
2.4.3. Instrumentos: .....	19
2.5. Métodos de análisis de datos .....	19
2.6. Aspectos Éticos .....	19
III. RESULTADOS .....	20
IV. DISCUSIÓN .....	22
V. CONCLUSIONES.....	24
VI. RECOMENDACIONES.....	24
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
VIII. ANEXOS.....	28

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” (AESA) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

**Métodos:** Se realizó un estudio in vitro mediante la obtención de aceite esencial por arrastre de vapor, dilución, cultivo y método de Kirby-Bauer. **Resultados:** Se encontró una media de halos de inhibición de 19.6 mm para la concentración de AESA al 100%  $\pm$  2, de 15.4 mm  $\pm$  1 para la concentración al 75%, de 12.1 mm para la concentración al 50%  $\pm$  1.6 y de 8.7 mm  $\pm$  1.5 para la concentración al 25%. El halo de inhibición promedio de ciprofloxacino fue 29 mm  $\pm$  3, casi el doble obtenido de la dilución AESA al 100%. **Conclusiones:** AESA posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo mayor en altas concentraciones, pero inferior a ciprofloxacino.

**PALABRAS CLAVE:** Efecto antibacteriano, aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ciprofloxacino.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the antibacterial effect of the essential oil of *Syzygium aromaticum* "clove" (EOSA) on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared with ciprofloxacin, in vitro study.

**Methods:** An in vitro study was carried out by obtaining essential oil by steam drag, dilution, culture and Kirby-Bauer method. **Results:** A mean inhibition halos of 19.6 mm was found for the concentration of 100% EOSA + - 2, of 15.4 mm + - 1 for the concentration at 75%, of 12.1 mm for the concentration at 50% + - 1.6 and of 8.7 mm + - 1.5 for the 25% concentration. The mean inhibition halo of ciprofloxacin was 29 mm + - 3, almost twice the one obtained from the 100% EOSA dilution

**Conclusions:** EOSA has an antibacterial effect on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, being higher in high concentrations, but lower than ciprofloxacin.

**KEY WORDS:** Antibacterial effect, essential oil of *Syzygium aromaticum*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ciprofloxacin.



## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Realidad problemática

Las enfermedades infecciosas, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), son las principales causas de defunciones en los países subdesarrollados (más del 52% de defunciones registradas en el año 2015) y en países desarrollados se encuentra como la cuarta causa de defunción.<sup>1</sup>

*Staphylococcus aureus* es una bacteria anaerobia grampositiva oportunista de la microflora humana donde más del 20% se localiza en fosas nasales y un 30% se encuentra de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal, que puede producir múltiples infecciones e intoxicaciones llegando a comprometer cualquier órgano y generando problemas leves a nivel tegumentario como foliculitis, impétigo hasta cuadros severos como neumonía necrotizante, osteomielitis, bacteriemia y sepsis.<sup>1,2</sup>

El hallazgo de cepas de *S. aureus* con resistencia a meticilina (SARM) y vancomicina (SARV), es una preocupación en el ambiente nosocomial debido al incremento de la mortalidad causando infecciones graves, conllevando a un mayor tiempo de hospitalización y costos elevados del tratamiento, en comparación con *Staphylococcus aureus* sin resistencia.<sup>2</sup>

La resistencia a los fármacos de primera línea para tratar las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* está muy extendida y se estima que las personas con SARM tienen un 64% más de riesgo de mortalidad que las personas con infección de una forma no resistente.<sup>3</sup>

La actividad antimicrobiana del clavo de olor se basa en sus componentes de eugenol y cinamaldehído que contienen complejos de Beta-ciclodextrina que fueron probados en enteropatógenos con resultados altamente favorables para su inhibición, así mismo contienen aditivos alimentarios ya que son muy eficaces y por ser productos naturales son preferidos por los consumidores.

Además, la solubilidad y la liberación se mejoran con el proceso de encapsulación<sup>4</sup>

## 1.2. Trabajos previos

**Wankhede T<sup>5</sup> (India 2015)** evaluaron el efecto antibacteriano de *Syzygium eety* del extracto metanólico sobre *Proteus vulgaris*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* utilizando el método de difusión en discos de agar. Encontraron que para *P. vulgaris* un halo de 12 mm, para *S. flexneri* un halo de 14 mm, y para *S. aureus* MTCC-96 un halo de 13 mm. Este estudio concluyó que *Syzygium aromaticum* tiene buena interacción con patógenos bacterianos.

**Hameed B et al<sup>6</sup> (Iraq, 2015)** estudiaron el efecto antibacteriano del AESA a diferentes concentraciones (10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, y al 0.312%), sobre patógenos grampositivos y gramnegativos, mediante el método de difusión en discos de agar. Los resultados encontrados fueron para *Staphylococcus aureus* un halo de 20 mm  $\pm$  2.8, para *Enterococcus fecalis* un halo de 25 mm  $\pm$  2.6, y para *Pseudomona aeruginosa* un halo de 17 mm  $\pm$  3.3. Este estudio demostró que el AESA es un agente potente que exhibía una alta actividad antibacteriana.

**Barakat H<sup>7</sup> (Egipto, 2014)** estudió el efecto antibacteriano del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) obtenido por arrastre con vapor de agua, sobre patógenos Gram positivo y Gram negativos utilizando el mismo método descrito en el estudio anterior. Encontraron para *E. coli* un halo de 21.67 mm  $\pm$  0.19, para *P. aeruginosa* un halo de 19 mm  $\pm$  0.33, y para *Staphylococcus aureus* un halo de 22.67 mm  $\pm$  0.38. Este estudio demostró alto efecto antibacteriano del clavo de olor en múltiples patógenos.

**Hassan A et al<sup>8</sup> (Iraq, 2014)** determinaron el efecto antibacteriano del AESA sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Los resultados fueron expresados en halos de

inhibición (mm): para *S. aureus* fue 20 mm, para *S. pyogenes* fue 23 mm, para *E. coli* fue 25 mm, y para *P. aeruginosa* de 16 mm, demostrando que el AESA tiene mayor efecto antibacteriano en patógenos grampositivos que en gramnegativos.

**Ramadan M et al<sup>9</sup> (Egypto, 2013)** identificaron el efecto antibacteriano del AESA sobre múltiples microorganismos como bacterias y hongos mediante el método de difusión en discos de agar. Los hallazgos encontrados fueron para *E. coli* un halo de 17 mm  $\pm$  0.12, para *P. aeruginosa* un halo de 25 mm  $\pm$  0.29, para *S. aureus* un halo de 22 mm  $\pm$  0.09, y para *C. albicans* un halo de 29 mm  $\pm$  0.9. Este estudio demostró que la caracterización de las moléculas bioactivas del AESA posee alta actividad antibacteriana contra patógenos grampositivos, gramnegativos y hongos.

### 1.3. Teorías relacionadas al tema

Los *Staphylococcus aureus* pertenecen al dominio de bacterias, en el filo de firmicutes de la clase bacilli, en el orden bacillales, de la familia staphylococcaceae, del género *Staphylococcus*, y de la especie *S. aureus* (*S. aureus*). Son patógenos grampositivos de forma circular organizados en forma de racimos irregulares semejantes a las uvas, esta disposición morfológica se debe a que tiene una división celular en dos planos, en comparación a los *Streptococcus* que tiene una división en un solo plano. *Staphylococcus* utiliza como fuente de energía la fermentación de hidratos de carbono, así mismo produce pigmentos que cambian de una coloración blanquecina a una coloración amarillenta.<sup>10</sup>

Existen alrededor de 40 especies de *Staphylococcus* que tiene como microflora habitual la piel y mucosas que pueden ocasionar abscesos, supuraciones, diversas infecciones pyogenas e incluso septicemia mortal; pero solo tres de estas especies son de importancia clínica: *S. aureus*, *S.*

epidermidis y *S. saprophyticus*. Lo que diferencia al *S. aureus* de otras especies es su capacidad de coagular el plasma.<sup>11</sup>

Además tiene la capacidad de crecer con rapidez en casi todos los medios de cultivo, subsistir en medios aeróbicos favorecido a temperaturas de 37° C y resistentes al calor (resisten temperaturas mayores 50°C por 30 min). Sus colonias en medios bacteriológicos sólidos tienen las siguientes características macroscópicas: son brillantes, lisas, circulares y de coloración gris a amarillo claro.<sup>12</sup>

Su estructura morfológica es particularmente especial ya que la pared celular tiene un grupo de componentes de importancia clínica como el peptidoglicano que le confiere a la pared un exoesqueleto rígido, la importancia clínica de dicho polisacárido radica en que desencadena la producción de interleucina-1 (IL-1) un pirógeno endógenos. Los ácidos teicoicos son el grupo de lípidos que constituyen la pared celular, son utilizados como antígenos de detección en infecciones staphylococicas. La proteína A de superficie cumple un rol importante en la identificación del patógeno por el sistema inmune del ser humano ya que se une a la porción Fab de la IgG e induce la cascada del sistema de complemento.<sup>13</sup>

En los seres humanos puede establecerse como un agente patógeno o solamente como un agente comensal teniendo como principal sitio de colonización la mucosa nasal y se estima que el 20 a 30% de sujetos son portadora en el mundo. La mayoría de las infecciones causadas por patógenos bacterianos está precedida por un periodo de colonización, así mismo las infecciones logran producir síndromes a causa de diversas toxinas. *S. aureus* posee en su superficie un grupo de moléculas que llamaremos “moléculas adhesivas de matriz que reconocen componentes de superficie”.<sup>14</sup> La capacidad de generar infecciones está mediada por múltiples mecanismos como es la diseminación por multiplicación bacteriana y la producción de algunas toxinas como la catalasa que degrada el peróxido de hidrogeno en

agua y oxígeno, y la coagulasa que utiliza para atraer fibrina a la superficie de sus colonias para evitar su identificación por el sistema inmunológico.<sup>15</sup>

La resistencia bacteriana que actualmente tiene *Staphylococcus* se debe al intercambio de material genético que es transportado por plásmidos, transposones y secuencias de inserción. Se ha identificado que la resistencia a las penicilinas está involucrada el gen *blaZ* mediante la hidrólisis enzimática del núcleo B-lactámico y la resistencia a los B-lactámicos está involucrado el gen *mecA* mediante la afinidad reducida al antibiótico.<sup>16</sup>

El clavo de olor se ha empleado durante siglos como conservantes de alimentos y como plantas medicinales debido principalmente a sus actividades antioxidantes y antimicrobianas. Hoy en día, muchos informes confirman las propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y anticancerígenas. *Syzygium aromaticum* (*S. aromaticum*) comúnmente conocido como clavo de olor, es un árbol de tamaño mediano (8-12 m) de la familia nativa Mirtaceae de las islas Maluku en el este de Indonesia.<sup>17, 18</sup>

*S. aromaticum* tiene una corona de tamaño mediano, arbusto, árbol de hoja perenne que crece hasta 8-20 metros de altura. Varias partes del árbol como las hojas y la corteza son aromáticas, pero es más famoso por los brotes de flores aromáticas. Las hojas son simples, de color verde brillante y brillante. La superficie inferior de las hojas está cubierta de glándulas oleosas aromáticas. Las hojas elípticas con pecíolos pueden crecer hasta 13 cm de largo a lo largo de numerosas ramas cortas. Las flores se forman en pequeños racimos. Los brotes de flores en el inicio son pálidos con un aspecto brillante, carnosos, tornándose verde y se vuelven de color rojo brillante a medida que maduran.<sup>19, 20</sup>

Representa una de las principales fuentes vegetales de compuestos fenólicos como flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos e hidroxifenil propens.<sup>21</sup> como lo son el ácido gálico, quercetina, compuestos (ácido p-cumárico, ácido protocateucúico y ácido jerárquico) que se

encuentran en concentraciones inferiores; ácidos fenólicos como los ácidos cafeico, ferúlico, elágico, salicílico.<sup>22</sup> asimismo posee cantidades superiores de eugenol, considerado el principal componente bioactivo que posee esta planta.<sup>25</sup>

Aproximadamente, el 89% del AESA es eugenol y del 5% al 15% es acetato de eugenol y  $\beta$ -cariofileno, concentraciones de hasta el 18% de aceite esencial se puede encontrar en los botones de flor de clavo. El clavo de olor es una planta medicinal importante debido a la amplia gama de efectos farmacológicos consolidados, como lo es su actividad antimicrobiana, la cual se basa en el eugenol.<sup>23, 24</sup>

El eugenol (4-alil-2-metoxifenol) es un hidroxifenil propeno anfipático presente en una variedad de plantas, incluyendo *S. aromaticum*, una fuente particularmente buena de este propeno, comúnmente conocido como clavo de olor. La actividad antimicrobiana del eugenol puede atribuirse a la presencia de un grupo hidroxilo libre en la molécula. La mayor parte de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (OEs) es conferida por sus grupos hidroxilo libres y en el pasado algunos autores plantearon la hipótesis de que se cree que el grupo hidroxilo del eugenol se une a las proteínas, evitando la acción enzimática. Se han descrito diferentes mecanismos para explicar la actividad del eugenol en las células bacterianas. Principalmente, podría actuar por la interrupción de la membrana citoplasmática que aumenta la permeabilidad no específica de la membrana y afecta el transporte de iones y ATP.<sup>25,26</sup>

#### 1.4. Formulación al problema

¿El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro?

## 1.5. Justificación del estudio

Ciertos estudios de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” han demostrado diversos efectos antibacterianos entre los cuales se encuentra las cepas de *Staphylococcus aureus*, un patógeno altamente infeccioso que afectan primordialmente el tegumento y se ha visto asociado a una alta tasa de resistencia bacteriana identificada por la sociedad científica.

Estos recientes estudios son muy escasos en nuestro medio a pesar de que el clavo de olor es de consumo frecuente en nuestros hogares y la gran relevancia que la medicina alternativa, basada principalmente en la rama de fitoterapia, ha demostrado en cuanto a la efectividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales, dentro de los cuales se encuentra el aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.

Se considera que el presente estudio resulta beneficioso para la población debido a que AESA, a diferencia de medicamentos de uso tradicional, no presenta reacciones adversas nocivas, es de fácil acceso y tiene un costo muy bajo, lo cual motiva a realizar esta investigación.

## 1.6. Hipótesis

### ➤ Hipótesis alternativa (H<sub>a</sub>):

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

### ➤ Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):

El aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” no posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

## 1.7. Objetivos

### 1.7.1. Objetivo general

- Evaluar si el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

### 1.7.2. Objetivos específicos

- Establecer el efecto antibacteriano de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Determinar el efecto antibacteriano de ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Comparar el efecto antibacteriano de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y ciprofloxacino sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

## II. MÉTODO

**2.1. Diseño de investigación:** Se empleó un diseño experimental de series de tiempo con repeticiones múltiples

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	----	O6

Dónde:

RG: Grupos de estudio

X1: Dilución de AESA 100%

X2: Dilución de AESA 75%

X3: Dilución de AESA 50%

X4: Dilución de AESA 25%

X5: Tratamiento con Ciprofloxacino

X6: Control negativo: DMSO

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición



## 2.2. Variables, operacionalización

- **Variables:**

- Variable independiente
  - A. Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*
  - B. Ciprofloxacino
- Variable dependiente: Efecto antibacteriano

- **Operacionalización de variables:**

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Tratamiento para <i>Staphylococcus aureus</i> con aceite esencial de <i>Syzygium Aromaticum</i> y ciprofloxacino.	Sustancia obtenida a partir de la materia prima desecada de origen vegetal, por destilación de arrastre a vapor. <sup>34</sup>	Se divide las muestras de las cepas de estudio en 5 grupos en relación a las diluciones realizadas: concentración a 100% 75% 50% 25% ciprofloxacino	G1 G2 G3 G4 G5 G6 DMSO	Cualitativa nominal

VD: Efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	Capacidad para evitar el crecimiento de bacterias. <sup>4</sup>	Evaluación del efecto antimicrobiano: Sensible: > 22 mm Intermedio: 15-16 mm Resistente: ≤15mm	Si Eficaz ≥22mm, No Eficaz: ≤22mm	Cualitativa nominal
--	---	--	--	---------------------

### 2.3. Población y muestra

- **Población:** Estuvo constituida por todas las cepas de *Staphylococcus aureus* cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.
- **Muestra:** Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para obtener el número de placas necesarias que requiere la investigación, tomando datos basados en prueba piloto.( ANEXO 01)
- **Criterios de selección:**
  - **Criterios de inclusión:** Placas Petri con cultivos viables, cultivados 48 horas.
  - **Criterios de exclusión:** Cepas que no crecieron en el medio de cultivo o muestra contaminada.

### 2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- 2.4.1. La técnica para la investigación aplicada en el estudio es:** Observación directa del experimento.

#### **2.4.2. Procedimiento (ANEXO 02)**

- a) La planta de clavo de olor fue certificada taxonómicamente por el herbolario de la Universidad Nacional de Trujillo (ANEXO 03).
- b) Se obtuvo el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” mediante la técnica de arrastre a vapor de agua.
- c) Se empleó el medio de cultivo agar Muller-hinton para el cultivo de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923, en la prueba de sensibilidad antibacteriana de acuerdo a las recomendaciones del CLSI.

**2.4.3. Instrumentos:** El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos, en donde luego de observar las placas, se registraron las diluciones y halos de inhibición luego de 48 horas. (ANEXO 04)

#### **2.5. Métodos de análisis de datos**

Los datos obtenidos en los resultados se tabularon en el programa Microsoft Excel 2013 y posteriormente procesados según el programa estadístico SPSS versión 25; asimismo debido a que la muestra fue <35 se comprobó la normalidad con la fórmula Shapiro Wilk y se encontró que éstos datos cumplieron con la normalidad, por lo tanto se analizaron como pruebas paramétricas, aplicando el análisis de varianza (ANOVA) de un factor con pruebas post hoc y asumiendo varianzas diferentes se utilizó el test T3 Dunnett.(ANEXO 05)

#### **2.6. Aspectos Éticos**

En el presente trabajo se respetó las normas establecidas dentro del Código de Ética y Deontología del Colegio Médico del Perú, sección segunda art 42.<sup>6</sup> (ANEXO 06)

### III. RESULTADOS

Tabla 1: Efecto antibacteriano de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio in vitro.

Tratamiento con Aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i>	n	Mín.	Máx.	Media	S
100%	10	16	23	19.6	2.07
75%	10	13	17	15.4	1.43
50%	10	10	15	12.1	1.60
25%	10	6	10	8.7	1.57

Fuente: Datos obtenidos en la investigación. Ficha de recolección de datos

INTERPRETACIÓN: Los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron en la concentración del Aceite esencial *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” al 100% con una media 19,6 mm +- 2 mm; considerando que el máximo fue de 23 mm, le sigue la concentración del Aceite esencial *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” al 75% con una media de 15.5 mm +- 1.4 mm, asimismo se halló que la menor inhibición sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, lo obtuvo el Aceite esencial *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” al 25% con una media de 8.7 mm +- 1.5.

Tabla 2: Efecto antibacteriano de ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio in vitro.

Tratamiento	n	Mínimo	Máximo	Media	S
Ciprofloxacino	10	24	35	29.00	3.43

Fuente: Datos obtenidos en la investigación. Ficha de recolección de datos

INTERPRETACIÓN: Ciprofloxacino presentó un máximo nivel de halo de inhibición de 35 mm de diámetro  $\pm$  3,4, lo que indica su sensibilidad frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tomando en cuenta que es sensible si el halo de inhibición  $>$  22 mm.

Tabla 3: Comparaciones múltiples del Aceite esencial de *Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones, analizadas con pruebas post hoc mediante la técnica del test T3 Dunnett al asumir varianzas diferentes, en un estudio in vitro.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I- J)	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
AESA 100%	AESA al 75%	4,2	0.001	1.7	6.7
	AESA al 50%	7,5	0.000	4.9	10.1
	AESA al 25%	10,9	0.000	8.3	13.5
	Ciprofloxacino	-9,4	0.000	-13.5	-5.3
AESA 75%	AESA al 50%	3,3	0.001	1.2	5.4
	AESA al 25%	6,7	0.000	4.6	8.8
	Ciprofloxacino	-13,6	0.000	-17.5	-9.7
AESA 50%	AESA al 25%	3,4	0.001	1.2	5.6
	Ciprofloxacino	-16,9	0.000	-20.9	-12.9
AESA 25%	Ciprofloxacino	-20,3	0.000	-24.3	-16.3

Fuente: Datos obtenidos en la investigación. Ficha de recolección de datos

INTERPRETACIÓN: Al realizar comparaciones múltiples entre los grupos estudiados (AESA 25%, 50%, 75%, 100% y ciprofloxacino), mediante la técnica del test T3 Dunnett, se halla que la variabilidad de los diámetros de halo de inhibición entre los distintos tratamientos es estadísticamente significativo ( $p \leq 0.05$ ).

#### IV. DISCUSIÓN

La ineficacia de los antibióticos de amplio espectro hacia ciertas bacterias ha incrementado gradualmente en los últimos años causando gran desconcierto y obligando a la búsqueda de nuevas alternativas farmacéuticas y entre otras opciones para poder atenuar este incremento. Como diversos trabajos de investigación en donde se ha demostrado que cierta cantidad de plantas serían una alternativa ante esta problemática ya que poseen sustancias que brindan actividad antibacteriana comparable con la ejercida por los antibióticos. Por eso, debido al incremento progresivo de la resistencia bacteriana frente a antibióticos de amplio espectro y ante una cantidad limitada de antibióticos disponibles en el mercado; se plantea como alternativa la fitoterapia por lo que este estudio evaluó el efecto *in vitro* del AESA sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino.

Como se observa en el la tabla 1, los halos de inhibición de mayor diámetro se presentaron con la concentración del aceite esencial AESA 100% con una media 19,6 mm  $\pm$  2 mm; considerando que el máximo fue de 23 mm, le sigue un halo de inhibición medio de 15.5 mm  $\pm$  1.4 mm a una concentración de 75%. Asimismo, se halló que a menor concentración de AESA el efecto va disminuyendo; lo cual demuestra el efecto antibacteriano a mayores concentraciones. Estos datos son semejantes a los mostrados en estudios realizados por Barakat H<sup>7</sup> (Irac 2014), quien al estudiar la actividad antibacteriana de AESA, obtenido por arrastre con vapor de agua, sobre patógenos Gram positivo y Gram negativos, encontró para *E. coli* un halo de inhibición medio 21.67 mm  $\pm$  0.19, para *P. aeruginosa* un halo de 19 mm  $\pm$  0.33, y para *Staphylococcus aureus* un halo de 22.67 mm  $\pm$  0.38. Manoj K et al<sup>25</sup>, afirman que es común hallar estos resultados debido a que *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” posee eugenol, considerado el principal componente bioactivo con actividad antimicrobiana que posee esta planta, lo cual se logra mediante el ataque de proteínas y fosfolípidos de las membranas celulares de los microorganismos, produciendo la muerte de éstas células. Langeveld W et al<sup>33</sup> mencionan que esto es posible gracias a los posibles mecanismos de acción del eugenol, como: la acción inhibitoria de la ATPasa, lo que conlleva a la

desnaturalización proteica de la membrana celular, la disminución de varios factores protectores del patógeno a concentraciones sub inhibitorias y por último el bloqueo de la acción de bomba de flujo.<sup>33</sup>

En la tabla 2 se aprecia que ciprofloxacino presentó un máximo nivel de halo de inhibición de 35 mm de diámetro  $\pm 3$ , lo que indica la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a ciprofloxacino tomando en cuenta que se considera sensible si el halo de inhibición  $> 22$  mm<sup>28</sup>.

Al exponer el *S. aureus* utilizando AESA 100% se esperaba obtener un halo de inhibición superior o igual a ciprofloxacino, pero en varias muestras éste fue menor. Hili P et al afirman que esto se puede deber a factores extrínsecos e intrínsecos de AESA como el tiempo de su cosecha, el lugar de origen y/o su método de preparación<sup>32</sup>.

Para poder realizar comparaciones múltiples entre los grupos estudiados (AESA 25%, 50%, 75%, 100% y ciprofloxacino), como se puede observar en la tabla 3, se utilizó pruebas post hoc mediante la técnica del test T3 Dunnett, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las medias de los halos de inhibición de los grupos estudiados. Asimismo, al comparar las medias de los halos de inhibición, se observa que la mayor diferencia se da entre el AESA 25% y el ciprofloxacino. Estas diferencias se reducen a medida que se incrementa la concentración.

## **V. CONCLUSIONES**

- El aceite de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, a concentraciones mayores de 75%.
- Ciprofloxacino tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con un máximo halo de inhibición de 35 mm y un mínimo de 24 mm.
- El efecto antibacteriano del aceite esencial *Syzygium aromaticum* 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es inferior comparado con Ciprofloxacino.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Continuar las investigaciones del clavo de olor en base a los beneficios que brinda y aporta al campo de la medicina.
- Proyectar este trabajo de investigación a la creación de productos para tratamiento antibiótico contra *Staphylococcus aureus* habiendo demostrado su efecto.
- Incentivar a realizar más investigaciones en el campo de la fitoterapia considerando que son productos de origen natural, más accesibles y con escasos efectos secundarios.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Organización mundial de la Salud (OMS). Las diez principales causas de muertes a nivel mundial. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index1.html>
- 2) Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. REV LAT PAT CLIN. 2014; 01: 28-40.
- 3) Gerald B, Wilkinson A, Tomson G, Awor P. Addressing Resistance To Antibiotics In Pluralistic Health Systems. FUT HEAL SIST. 2015; 01:78118-228-4.
- 4) Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. la ed. Lima ed. AIDSESEP, 1994: 78-81.
- 5) Wankhede T. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of the Indian clove *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perr. J. of Science. 2015; 3:166-172.
- 6) Hameed B, Faisal S, Widad H. A Comparative Study of the Antibacterial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils on Multidrug Resistant Bacteria J PHARMACEUT BIOMED. 2015; 3: 18-22.
- 7) Barakat H. Composition, Antioxidant, Antibacterial Activities and Mode of Action of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Buds Essential Oil. J APPL STAT. 2014; 4 1934-1951.
- 8) Hassan A, Ibrahim S, Hussain A. Antibacterial activities of cinnamon *zelanicum syzygium aromaticum* essential oil. INT J PHARM.2014; 165-168.
- 9) Ramadan M, Asker S, Tadros M. Lipid profile, antiradical power and antimicrobial properties of *Syzygium aromaticum* oil. M.F. RAMADAN.2013; 64: 509-520.
- 10) Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología medica. 6º edición. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.
- 11) Longo D. Kasper D. Jomson J. Fousi A. Houser S. Loscalzo J. Harrison principios de medicina interna. 3.18º edición. México D.F: Mc Graw Hill; 2008.
- 12) Goldman L, Ausiello D. Cecil tratado de medicina interna. 2. 23º edición. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.

- 13) Brooks G, Carrol K, Buyel J, Morse S, Migtzner T. Microbiología medica. 25<sup>o</sup> edición. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
- 14) Forbes B, Sanm D, Weissfeld A, Trevio E. Diagnostico microbiológico. 11<sup>o</sup> edición. Uruguay.: Editorial Medica Panamericana; 2004.
- 15) Ammad N, Plorde J, Lawrence W. Sherris microbiologia medica. 5<sup>o</sup> edición. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
- 16) Southwick. Enfermedades infecciosas. 2<sup>o</sup> edición. México D.F: Mc Graw Hill; 2008.
- 17) Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales. 1<sup>o</sup> edición. Barcelona: Integra; 2012.
- 18) Garcia F, Mostacero J. Flora etnomedicinal de la región amazónica del Perú. Trujillo, Perú; 2009, 1: 35-38.
- 19) Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. la ed. Lima ed. AIDSESEP, 1994: 55-59.
- 20) Vanaclocha B, Cañigueral S. Fitoterapia. Vademécum de prescripción. 4<sup>a</sup> ed. Barcelona: Masson, 2003.
- 21) Alzate E. Plantas medicinales. 15<sup>a</sup> ed. Medellín. Ed. Arzobispado de Medellín. 1980.
- 22) Robbers J, Tyler V. Las hierbas medicinales de Tyler uso terapéutico de la fitomecinas. 1<sup>o</sup> edicion. Barcelona:Editoria Acribia S.A;2006: 23-27
- 23) Cortés D, Regina C, Wanderley O. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice 1691;14: 60-215.
- 24) Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1<sup>o</sup> edición. Barcelona: Omega; 2000.
- 25) Manoj K, Santanu B, Sushil K, Arun B, Pulk K. Anti-cholinesterase activity of the standardized extract of *Syzygium aromaticum* L. 2014; 10(2): 276–S282.
- 26) Krapp K, Longe J. Medicina alternativa. 1<sup>o</sup> edición. Barcelona, España: Oceano/Ergon; 2010.
- 27) Dawson B, Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Manual Moderno; 1999.
- 28) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S.

- 19087 USA, 2016. [citado: 25 de May de 2017]. Disponible en: <http://ijzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
- 29) Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua%20sensibilidad.pdf>
- 30) Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
- 31) Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. Disponible en: [http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley\\_creacion\\_cmp.pdf](http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf)
- 32) Hili P, Evans C, Veness R. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. Lett Appl Microbiol. 1997; 24 (4): 269-75.
- 33) Langeveld W, Veldhuizen E, Burt S. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. Crit Rev Microbiol. 2014;40(1):76-94
- 34) Marcén J. Antimicrobianos naturales. Medicina naturista. (Citado 12 de mayo de 2017. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/202443.pdf>

## VIII . ANEXOS

### ANEXO 01: TAMAÑO DE MUESTRA

$$n \geq \frac{(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2/r)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Donde:

$$Z_{1-\alpha/2} = 2.58$$

$$Z_{1-\beta} = 2.33$$

$$\mu_1 = 23.8$$

$$\sigma_1 = 1.48$$

$$\mu_2 = 31.6$$

$$\sigma_2 = 2.60$$

$$n = 8$$

## **ANEXO 02:**

### **PROCEDIMIENTO**

#### **Tratamiento de la muestra**

Las plantas de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” fueron obtenidas en el mercado La Hermelinda de Trujillo, se procedió a realizar la certificación de la planta por parte de la Universidad Nacional de Trujillo (Anexo 02).

Estas plantas fueron llevadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo donde se seleccionaron los botones florales con buenas condiciones obteniéndose la “muestra fresca”. La muestra fresca se lavó con agua destilada clorada, colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a una temperatura de 40-45°C por 3 días donde se deshidrató para después estrujar manualmente obteniendo partículas muy pequeñas llamadas “muestra seca”.

#### **Obtención del Aceite Esencial**

El AESA se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones herméticos estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el balón con la muestra seca y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.

### **Preparación del medio de cultivo**

Se utilizó agar Müller-Hinton como medio de cultivo que fue esterilizado en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en 10 placas petri estériles de plástico desechables una cantidad de 18-20 ml por cada placa y se dejó reposar hasta que solidifique completamente.

### **Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)**

Se utilizó el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar para lo cual se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100:

#### **a) Preparación del inóculo**

Se colocó 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, cultivado hace 18-20 horas, observando una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aprox.)

#### **b) Siembra del microorganismo**

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las placas petri.

#### **c) Preparación de las concentraciones del AESA**

Se preparó 4 concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25% utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100 mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

Se colocó 10 µL de cada concentración en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Este procedimiento se repitió 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, de tal modo que quedaron los discos a un cm del borde de la placa petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Ciprofloxacino 5 µg (control positivo) y se dejó en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a una temperatura de 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

Con una regla Vernier se midió el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano para cada una de las concentraciones de AESA y para el Ciprofloxacino de 5 µg. Se interpretó como sensible o resistente según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

## ANEXO 03:

### CENTIFICACIÓN DE PLANTA



### Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 120 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Myrtales
- Familia: Myrtaceae
- Género: *Syzygium*
- Especie: *S. aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry
- Nombre común: "clavo de olor"

Muestra alcanzada a este despacho por LUCERO BEATRIZ GONZALES DEZA, identificada con DNI: 47952150, con domicilio legal en Calle Los Rosales 1609- Paján- La Libertad. Estudiante de la Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo-Trujillo, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis : "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Syzygium aromaticum* SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO. "

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 07 de julio del 2018



Dr. JOSE MOSTACERO LEON  
Director del Herbario HUT

E- mail: [herbariumtruxillensehut@yahoo.com](mailto:herbariumtruxillensehut@yahoo.com)



**ANEXO 04:**  
**INSTRUMENTO**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Los datos obtenidos fueron obtenidos en la siguiente ficha:

Método empleado: Kirby-Bauer

Cepa empleada: Staphylococcus aureus ATCC 29213

Aceite esencial de Syzygium aromaticum “clavo de olor”  
(AESA)

Número de repeticiones	Halos de inhibición (mm)				
	AESA 100%	AESA 75%	AESA 50%	AESA 25%	ciprofloxacino
1	20	17	13	10	33
2	21	16	15	9	28
3	18	14	12	6	26
4	19	15	11	8	27
5	20	17	14	10	28
7	16	13	10	6	24
7	18	17	12	9	32
8	19	14	12	9	27
9	23	16	10	10	35
10	22	15	12	10	30

**ANEXO 05:**  
**PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK**

Tratamiento	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Aceite esencial de Syzygium aromaticum al 100%	0.981	10	0.971
Aceite esencial de Syzygium aromaticum al 75%	0.908	10	0.268
Aceite esencial de Syzygium aromaticum al 50%	0.929	10	0.441
Aceite esencial de Syzygium aromaticum al 25%	0.784	10	0.009
Ciprofloxacino	0.954	10	0.711

**ANEXO 06:**

**Código de ética del Colegio Médico del Perú, Art.48**

*Art. 48: “El médico debe presentar la información proveniente de una investigación médica, para su publicación, independientemente de los resultados, sin incurrir en la falsificación ni plagio y declarando si tiene o no conflicto de interés”*

**ANEXO 07:**  
**PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

		<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl<sub>1</sub></b>	<b>gl<sub>2</sub></b>	<b>Sig.</b>
<b>Halo de Inhibición</b>	Se basa en la media	3.576	4	45	0.013
	Se basa en la mediana	2.100	4	45	0.096
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2.100	4	24.765	0.111
	Se basa en la media recortada	3.492	4	45	0.014

**ANEXO 08**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA**

**Halo de Inhibición**

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	2462.120	4	615.530	133.296	0.000
Dentro de grupos	207.800	45	4.618		
<b>Total</b>	<b>2669.920</b>	<b>49</b>			